Aus dem Pharmakologischen Institut der Eberhard-Karls-Universität
in Tübingen
Vorstand: Professor Dr. Haffner.

Untersuchungen über die leukozytäre Reaktion bei Injektion ätherischer Öle an der weißen Maus

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung des Doktorgrades

in

Medizin, Chirurgie und Geburtshilfe

einer

hohen medizinischen Fakultät

der

Eberhard-Karls-Universität

zu Tübingen

vorgelegt von

Alfred Schwenk

aus Künzelsau a. K.

1940

Druckerei wissenschaftlicher Werke Konrad Triltsch
Würzburg-Aumühle

Dekan: Professor Dr. Usadel

Berichterstatter: Professor Dr. Haffner.

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät Tübingen.

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Bei Untersuchungen, die Mayer am Pharmakologischen Institut Tübingen über die leukozytenanlockende Eigenschaft verschiedener Pharmakagruppen anstellte, zeigte es sich, daß auch einigen ätherischen Ölen in recht verschieden starkem Grad solche Eigenschaften zukamen, in besonderem Maß hatte das Terpentinöl im Gegensatz zu den andern untersuchten ätherischen Ölen diese Leukozytenanlockung gezeitigt. Da die ätherischen Öle im Organismus recht verschiedenartig wirksam sind, erschien es interessant, die Untersuchungen an ätherischen Ölen auszudehnen und zu prüfen, ob sich auch Unterschiede in der leukozytären Reaktion nachweisen lassen.

1) Die Wirkung auf das Peritoneum der weißen Maus.

Als Versuchstier diente, wie bei Mayer, die weiße Maus, der die Agentien in die Peritonealhöhle injiziert wurden.

Methodik: Zum Versuch kamen männliche und weibliche Tiere zwischen 18 und 22 g. Es wurden zu den Versuchen nur einwandfrei gesunde und parasitenfreie Mäuse verwendet. Sie wurden während des Versuchs auf Porzellantellern unter Drahtgittern gehalten; die Nahrung bestand aus Haferkörnern und Wasser. Vor der Injektion wurde den Tieren am Bauch ein Stück Fell geschoren und die Haut an dieser Stelle durch Abreiben mit absolutem Alkohol desinfiziert. Zu der Injektion verwendeten wir eine Tuberkulinspritze, die durch 3—5 min. langes Kochen sterilisiert wurde. Durch diese Maßnahmen gelang es in den allermeisten Fällen, eine Infektion zu vermeiden. Die Injektion erfolgte so, daß die Nadel in die Gegend des kleinen Beckens geführt wurde. Von dem zu untersuchenden Agens wurden jeweils 2 ccm injiziert. Die Öle wurden in 10%iger Lösung in Paraffin- oder Sesamöl gespritzt. Wenn diese Konzentration tödlich wirkte, wurden entsprechend niederere Konzentrationen angewendet, bei denen dann die Tiere später keine Allgemeinwirkungen zeigten. In vielen Fällen traten für wenige Stunden Somnolenz und Ataxie auf, weiterhin erholten sich die Tiere aber vollständig. Für jede Substanz wurden Serien von 6 Tieren angesetzt, von denen je 2 am 1., 3. und 6. Tag nach der Injektion mit Leuchtgas getötet und seziert wurden. Dabei wurde auf

das Aussehen des Peritoneums sowie auf das Vorhandensein von Exsudat geachtet und dessen Menge und Aussehen festgestellt. Dann wurde bei jedem Tier mit einem mit Alkohol gereinigten Objektträger ein Abstrich vom Peritoneum gemacht. Anfangs wurde bei einigen Versuchen an verschiedenen Teilen des Peritoneums: Magen, Jejunum, Ilium, kleines Becken abgestrichen, um etwaige Verschiedenheiten in der Verteilung der Leukozyten festzustellen. Nachdem sich herausgestellt hatte, daß die Verteilung über das Peritoneum ziemlich gleichmäßig war, wurde von jedem Tier nur noch ein Abstrich gemacht, der über alle Bauchorgane weg geführt wurde. Die Ausstriche wurden an der Luft getrocknet und nach Pappenheim gefärbt. Die Ausdifferenzierung erfolgte so, daß in je 10 Feldern sowohl die Gesamtzahl der Leukozyten als auch die Zahl der segmentkernigen Leukozyten festgestellt, und auf den Durchschnitt für ein Gesichtsfeld bestimmt wurde. Epithelzellen wurden nicht mitgezählt. Eine Infektion konnte an dem Ausstrich mit leichter Mühe daran festgestellt werden, daß sich darin Bakterien fanden. Solche Ausstriche wurden ausgeschieden. Bei allen untersuchten Ölen zeigte sich an allen Tagen der Beobachtung eine ziemlich gleichmäßige, diffuse Gefäßinjektion des gesamten Peritoneums. Fibrinöse Beläge konnten nie festgestellt werden. Die Menge des Exsudats war bei allen Untersuchungen so, daß es nie abfloß, sondern sich nur in den Spalträumen zwischen den Därmen in geringer Menge ansammelte.

Die Untersuchungsergebnisse bei den einzelnen ätherischen Ölen sind in der folgenden Tabelle wiedergegeben. Es sind darin aufgeführt: Gesamtzahl der Leukozyten pro Gesichtsfeld, Zahl der segmentkernigen Leukozyten pro Gesichtsfeld.

Wie die Tabelle zeigt, lassen die untersuchten ätherischen Öle in Bezug auf ihre leukozytenanlockende Eigenschaft keinen nachweisbaren Unterschied erkennen. Segmentkernige treten meist nur in den ersten Tagen nach der Injektion auf. Am 6. Tag sind sie zumeist fast vollständig verschwunden. Eine Ausnahme machen hier Terpentin, Cassiazimtöl, Fenchelöl und Pfefferminzöl; hier fällt auf, daß auch am 6. Tag nach der Injektion noch ein gewisser Prozentsatz der Weißen von Segmentkernigen gebildet wird. Im allgemeinen aber überwiegt die lymphozytäre Reaktion. Es scheinen somit den meisten ätherischen Ölen bei der Einwirkung auf das Peritoneum der weißen Maus keine spezifischen leukozytenanlockenden Eigenschaften zuzukommen. Die überwiegend lymphozytäre Reaktion scheint eher auf einen unspezifischen Resorptionsreiz hin-

Tabelle 1: Leukozytenbilder der provozierten Exsudate.

Substanz	getötet nach	Tagen 1 Ges. Leuk.	1 Segm. Leuk.	3 Ges. Leuk.	3 Segm. Leuk.	6 Ges. Leuk.	6 Segm. Leuk.
Cassia-Zimtöl 0,1 ccm 10%	1			10	1	6	3
(+ Sesamöl)	2			10	1	4	2
Kamillenöl 0,1 ccm 10%	1			16	2	6	0
(+ Sesamöl)	2			21	1		
Eukalyptusöl 0,1 10%	1			12	1	3	0
(+ Sesamöl)	2			6	2	3	0
Terpentinöl 0,2 10%	1			10	3	3	0
(+ Sesamöl)	2			25	5		
Terpentinöl 0,2 10%	1	6	3	23	0	25	8
(+ Paraffinöl)	2	31	0	54	4	19	3
Baldrianöl 0,2 10%	1			13	2		
(+ Sesamöl)	2			19	2		
Baldrianöl 0,2 10%	1	22	10	10	2		
(+ Paraffin)	2	15	7				
Ol. Pini pum. 0,2 10% (+ Sesamöl)	1			13	2	3	0
Anisöl 0,2 10%	1	25	5	10	1	15	1
(+ Paraffin)	2	11	6				
Sadebaumöl 0,2 10 %	1	12	1	35	6	33	2
(+ Paraffin)	2			15	2		
Ol. pini silv. 0,2 10%	1	15	3	27	7	21	0
(+ Paraffin)	2	23	5	44	4	16	0
Zitronenöl 0'2 10%	1	13	2	35	3	33	0
(+ Paraffin)	2	16	3	58	15		
Ol. pini pum. 0,2 3%	1	20	8	18	3	15	0
(+ Paraffin)	2	41	9	34	4	31	0
Thymianöl 0,2 10%	1	22	9	53	4	30	0
(+ Paraffin)	2					26	1

zu Tabelle 1

getötet nach		Tagen					
		1		3		6	
Substanz		Ges. Leuk.	Segm. Leuk.	Ges. Leuk.	Segm. Leuk.	Ges. Leuk.	Segm. Leuk.
Zimtöl 0,2 10% (+ Paraffin)	1	19	3	16	0	32	0
	2	14	3	29	2		
Fenchelöl 0,2 3% (+ Paraffin)	1	22	1	53	4	30	0
	2			41	3	25	2
Pfefferminzöl 0,2 10% (+ Paraffin)	1	59	30	30	4	29	2
	2	57	19	42	1	46	3
Petersilienöl 0,2 10% (+ Paraffin)	1	36	2	11	5	23	0
	2	24	4	6	1		
Sesamöl 0,2	1	26	9	22	2		
	2	24	8	23	2		
Paraffin 0,2	1	28	11	12	1		
	2	48	17	29	8		

zuweisen, da auch das als Kontrolle und Verdünnungsmittel verwendete Paraffinöl und Sesamöl qualitativ und quantitativ eine ganz ähnliche Reaktion, wie die untersuchten ätherischen Öle zeigt.

2) Die Wirkung auf das weiße Blutbild der weißen Maus.

Nachdem die Untersuchungen am Peritoneum der weißen Maus keine eindeutigen Ergebnisse gezeitigt hatten, wurde versucht, inwieweit auf Leukozytenzahl und Differentialblutbild der weißen Maus ätherische Öle von Einfluß sind. K a m m e r e r (Kl. Wochenschr. 1937, Nr. 8, S. 264), hat beim Kaninchen unter Einfluß von Injektion von ätherischen Ölen eine allerdings nicht regelmäßige Steigerung der Leukozytenzahl erhalten.

Über Tierhaltung gilt das bei der 1. Versuchsreihe gesagte mit dem Unterschied, daß die Tiere während des Versuchs in besonderen Ställen bei möglichst konstanter Temperatur gehalten wurden und bei der Fütterung jede Woche einmal grünen Salat und Milch erhielten.

Die Methodik der Blutuntersuchung war folgende:

Die Maus wurde in eine Blechröhre gesteckt, die durch einen eingekerbten Korken verschlossen war, durch den der Schwanz hindurchgeschoben und in ca. 40° warmes Wasser getaucht wurde. Wenn die Venenzeichnung deutlich hervortrat (meist nach ca. 1 Minute), wurde ein Stück des Schwanzendes abgeschnitten, der erste hervortretende Blutstropfen abgewischt, dann ohne zu drücken von dem Blut 0,05 ccm in die Zählpipette aufgezogen und mit Türk'scher Lösung auf das Volumen 1 aufgefüllt. Die Zählung erfolgte in einer Türk'schen Kammer. Nach der Blutentnahme für die Leukozytenzählung wurde dann noch ein Tropfen zum Blutausstrich abgenommen, dieser an der Luft getrocknet und nach Pappenheim gefärbt.

Das Verhalten der normalen Maus.

Es erfolgte zunächst eine tägliche Aufnahme des Leukozytenstatus. Es zeigten sich dabei erhebliche Schwankungen sowohl der Leukozytenzahl, wie des Differentialblutbilds, obwohl die Abnahme jeweils zur selben Tageszeit erfolgte (siehe Tabelle 2). Die Leukozyten können demnach von einem Tag auf den andern Sprünge bis auf das Doppelte zeigen. Bei den Erhöhungen scheinen dem Differentialblutbild nach besonders die Lymphozyten beteiligt zu sein.

Tabelle 2: Blutbilder normaler Mäuse.

Datum	2.11.	3.11.	4.11.	5.11.	7.11.	9.11.	10.11.	11.11.	12.11.	13.11.	16.11.	24.11.
kleine Lymphozyten	59	80	62	84	65	52	70	84	52	69	84	36
große Lymphozyten	8	7	21	—	11	24	13	11	25	3	10	25
Segmentkernige Granulozyten	33	12	16	16	23	24	17	5	23	28	6	39
Stabkernige Granulozyten	—	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Jugendformen	—	—	1	—	1	—	—	—	—	—	—	—
% Granulozyten insgesamt	33	13	17	16	24	24	17	5	23	28	6	39
Weiße insgesamt	12T	28T	18T	31T	20T	25T	22T	25T	18T	26T	20T	15T

Sodann wurde das Blutbild je morgens und abends untersucht. Auch hier ergaben sich starke Verschiebungen innerhalb eines Tages.

Tabelle 3: Blutbilder normaler Mäuse.

Datum	10.12. 9.20h	10.12. 18.05h	11.12. 9.55h	11.12. 17.00h	14.12. 9.40h	14.12. 19.35h	15.12. 10.00h	15.12. 18.45h	16.12. 9.50h	16.12. 18.35.
Kleine Lymphozyten	30	52	66	80	69	34	44	73	37	86
Große Lymphozyten	30	21 +2Mo	24	7 +1Mo	26	40	37	22	37	—
Segmentkernige Granulozyten	39	21	8	10	4	25	12	4	23	14
Stabkernige Granulozyten	1	3	2	2	1	1	6	1	2	—
Jugendformen	—	1	—	—	—	—	1	—	1	—
% Granulozyten insgesamt	40	25	10	12	5	26	19	5	26	14
Weiße insgesamt	11T		22T		15T		17T		10T	

Da an der Unregelmäßigkeit der Ergebnisse technische Mängel beteiligt sein konnten, wurden einige Präparate in der Weise untersucht, daß an verschiedenen Stellen ausdifferenziert wurde (Rand, Mitte, Anfang und Ende des Ausstrichs). Es ergaben sich dabei beispielsweise für die segmentkernigen Leukozyten Unterschiede, die nie über 5% hinausgingen. Ebenfalls zur Kontrolle der Technik wurden dann von ein und demselben Tier nacheinander verschiedene Zählungen gemacht; es ergaben sich dabei Schwankungen um 1 bis höchstens 4 Tausend Leukozyten. Trotz der oben erwähnten Schwankungen der Ergebnisse wurde nun die Einwirkung von subcutanen und intraperitonealen Injektionen besonders leukozytenanlockender Substanzen, wie Aleuronat, Terpentinöl und Salizylaldehyd untersucht. Bei einzelnen ergab sich dabei ein deutliches Ansteigen der Leukozytenzahl nach 4—6 Tagen, das aber nicht reproduzierbar war; öfters trat sogar ein Leukozytensturz auf. Beispielsweise seien die Ergebnisse von Aleuronat und Terpentinöl angeführt (Tabelle 4 und 5).

Auch die Injektion ins Peritoneum brachte keine Gleichmäßigkeit der Ergebnisse.

Auch beim Kaninchen wurden einige orientierende Untersuchungen vorgenommen; hier ließ sich ebenfalls bei einem Tier zwar eine

deutliche Steigerung der Leukozytenzahl mit gleichzeitiger Erhöhung der Segmentierten bei intravenöser Injektion von Terpentin erzielen, die aber bei einem zweiten Tier nicht auftrat.

Tabelle 4: Mäuseblutbild nach Aleuronatinjektion.

Datum	15.12. 18.40h	16.12. 9.50h	16.12. 18.30h	17.12. 17.45h	18.12. 9.25h	18.12. 12 40h	18.12. 17.50h	19.12. 9.50h
Kleine Lymphozyten	80	80	79		86	73	80	65
Große Lymphozyten	2	7	3		5	10	2	10
Segmentkernige Granulozyten	18	12	18	0,2 ccm 3% Aleuronat	9	17	18	24
Stabkernige Granulozyten	—	1	—	subcut.	—	—	—	—
Jugendformen	—	—	—		—	—	—	1
Granulozyten insgesamt	18	13	18		9	17	18	25
Weiße Bl. K. insgesamt		11T			13T	12T	10T	10T

Tabelle 5: Mäuseblutbild nach Terpentininjektion.

Datum	10.11. 9.20 h	11.11. 9.20 h	11.11. 17.50 h	11.11. 18.35 h	12.11. 9.25 h	13.11. 9.30 h
Kleine Lymphozyten	90	77		82	74	75
Große Lymphozyten	—	14		5	16	4
Segmentkernige Granulozyten	10	8	0,1 ccm 10 % Terpentin	13	8	21
Stabkernige Granulozyten	—	—	subcut.	—	1	—
Jugendformen	—	1		—	1	—
% Granulozyten insgesamt	10	9		13	10	21
Weiße Bl. K. insgesamt	17T	20T		13T	9T	21T

Es erweist sich demnach das Blutbild der weißen Maus zum Studium der Wirkung leukozytenanlockender Stoffe als nicht geeignet.

Zusammenfassung.

Es wurde untersucht, ob bei Injektionen in die Peritonealhöhle der weißen Maus sich ätherische Öle in Bezug auf ihre leukozytenanlockende Wirkung unterscheiden. Es ergab sich, daß wesentliche Unterschiede bei dieser Methode nicht festzustellen sind.

Untersuchungen am weißen Blutbild der weißen Maus zeigten schon normalerweise beträchtliche Schwankungen, sowohl der Leukozytenzahl, als auch des Differentialblutbilds. Subkutane Injektionen von Aleuronat, Terpentin und Salizylaldehyd ergaben keine reproduzierbaren Verschiebungen. Es bleibt dabei die Frage offen, ob dies nicht durch die Technik der Blutentnahme bei der weißen Maus bedingt ist.

Schrifttum.

Aschoff, Pathologische Anatomie I, S. 470 und 484.

Kammerer, Klinische Wochenschrift 1937, Nr. 8, Seite 264.

Dietrich, Allgemeine Pathologie und Pathologische Anatomie Bd. I, Auflage 1933, S. 189, 197.

Mayer und Gottlieb, Experimentelle Pharmakologie 1933, S. 602.

Lebenslauf.

Am 28. Mai 1914 wurde ich in Künzelsau als Sohn des Studienrats Wilhelm Schwenk geboren. Ich besuchte 3 Jahre lang die Seminarübungsschule in Künzelsau, anschließend die Realschule Künzelsau, die Oberrealschule Schwäb. Hall, das Reformrealprogymnasium Nürtingen und die Oberrealschule Eßlingen, wo ich im Frühjahr 1932 die Reifeprüfung ablegte. Im Mai 1932 ließ ich mich an der medizinischen Fakultät der Universität Tübingen einschreiben. Meine vorklinischen Semester verbrachte ich in Tübingen und München, meine klinischen in München, Kiel und wieder in Tübingen.